

Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Regenerasi Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Induksi Mutasi Ethyl Methane Sulphonate (EMS)

Oleh : Riwahyu Wartina

Pembimbing : Prof.Dr.Ir. Warnita, MP dan Ir. Fevi Frazia, MS

ABSTRAK. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Regenerasi Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Induksi Mutasi Ethyl Methane Sulphonate (EMS). Percobaan tentang pengaruh NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang (*Solanum tuberosum* L.) hasil induksi mutasi Ethyl Methane Sulphonate (EMS) telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada bulan Juli 2011 sampai dengan bulan Desember 2011. Percobaan ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi NAA dan BAP yang terbaik untuk menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi mutasi EMS. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu faktor A : konsentrasi NAA 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, dan 4,0 mg/l dan faktor B : konsentrasi BAP 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l dan 5,0 mg/l. Data hasil pengamatan dianalisis ragam dengan uji F, bila F hitung besar dari F tabel 5% dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test DNMR pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang menjadi planlet, waktu muncul rootlet, jumlah rootlet, diameter kalus dan bobot kalus. Konsentrasi NAA memberikan pengaruh terhadap diameter kalus kentang dan bobot kalus kentang. Warna kalus yang dihasilkan adalah hijau keputihan, hijau kekuningan, putih kecoklatan, coklat dan coklat kekuningan. Tekstur kalus yang terbentuk adalah kompak.

ABSTRACT. The Effect of NAA and BAP on the Callus Regeneration of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Yield of Induction Mutation Ethyl Methane Sulphonate (EMS). A study on the effect of NAA and BAP on the regeneration callus of potato (*Solanum tuberosum* L.) yield of induction mutation ethyl methane sulphonate (EMS) has been conducted at the laboratory of plant tissue culture bdp department, agroculture faculty, Andalas university from July to December 2011. The objective of this experiment is to find the best concentrations of NAA and BAP to promote regenerations callus of potato (*Solanum tuberosum* L.) yield of induction mutation EMS. This experiment used a completely randomized design (CRD) with 2 factor, they are factor A : concentrations of NAA 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l, and 5,0 mg/l and factor B : concentrations of BAP 1,0 mg/l, 2,0 mg/l, 3,0 mg/l, 4,0 mg/l, and 5,0 mg/l. Data were analyzed using F test and Duncan's New Multiple Range Test (DNMR) at 5% level. Results show that nothing interaction between NAA and BAP on the regeneration callus of potato (*Solanum tuberosum* L.) to be planlet, waktu muncul rootlet, callus diameter, and callus weight. Concentrations of NAA increased callus diameter and callus weight of potato. Callus colour are green whitish, green yellowish, white brownish, brown and brown yellowish. Callus texture is compac.

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura penghasil umbi dan sebagai sumber karbohidrat. Daerah yang cocok untuk budidaya tanaman kentang adalah dataran tinggi dengan ketinggian 1.000-3.000 mdpl, curah hujan 1.500 mm/tahun, suhu rata-rata harian 18-21°C, serta kelembaban 80-90% (Rukmana, 1996). Kentang mendapatkan prioritas untuk dikembangkan di Indonesia, karena kentang merupakan tanaman cepat mendapatkan keuntungan. Dan disisi lain kentang memiliki kandungan karbohidrat 12,1%, gula 0,13%, pati 11,98%, dan protein 4,04% (Satria tahun 2004 *cit.* Amelia, 2009).

Meningkatnya permintaan komoditas kentang mengakibatkan meningkatnya kebutuhan akan bibit kentang dalam jumlah yang cukup besar. Hal ini sangat sulit dicapai apabila teknik perbanyakan benih masih menggunakan metoda konvensional, yaitu dengan menggunakan umbi kentang sebagai bibit tanpa seleksi terhadap tanaman sehat atau bebas virus sebelum digunakan sebagai bibit

berikutnya. Dalam upaya untuk mengatasi kebutuhan kentang yang semakin meningkat dan untuk menghindari ketergantungan terhadap impor pada masa mendatang maka perbaikan sifat tanaman yang sesuai dengan kebutuhan tampaknya mutlak dilakukan. Pada umumnya sifat yang diinginkan adalah tanaman yang memiliki resistensi tinggi terhadap hama dan penyakit, bentuk umbi oval, warna daging putih, resisten tinggi terhadap kerusakan mekanis serta memiliki cita rasa dan tekstur yang sesuai dengan selera konsumen.

Guna mengatasi masalah ini perlu dilakukan upaya-upaya untuk meningkatkan hasil dan kualitas produksi kentang yang sehat dan bebas dari patogen. Untuk mendapatkan bibit kentang yang berkualitas tersebut dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan teknik menumbuhkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik kultur jaringan dapat menyediakan bibit dalam jumlah banyak pada waktu yang singkat, tidak tergantung pada

musim, dan bibit yang dihasilkan bebas hama dan penyakit. Di dalam kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan dalam menerapkan teknik kultur jaringan sangat sulit melakukan upaya perbanyak tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh (Pierik, 1997)

Suryowinoto (2000) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh golongan auksin sangat baik untuk menginduksi kalus. Auksin adalah salah satu hormon yang mempengaruhi pertumbuhan dan mendorong pembelahan sel. Penggunaan kombinasi antara auksin (NAA) dengan sitokinin (*Benzyl adenin* ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (Litz, Moon, dan Chavez, 1995). Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang mendorong pembelahan sel. Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Bhaskaran dan Smith, 1990).

Zat Pengatur tumbuh berperan dalam meregenerasikan kalus kentang. Regenerasi merupakan salah satu komponen dalam memanipulasi genetik secara *in vitro*. Untuk mendapatkan tanaman hasil rekayasa genetik diperlukan suatu sistem regenerasi yang berhasil meregenerasikan bagian tanaman menjadi tanaman baru. Sistem regenerasi umumnya terkait dengan komposisi media dasar serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Pada umumnya penelitian regenerasi yang berhasil pada tanaman kentang menggunakan dua tahap media, yaitu tahap induksi kalus yang menggunakan auksin dan zeatin atau zeatin ribosida serta media tahap kedua untuk meregenerasi tunas dengan menggunakan sitokinin selain zeatin (De Block, 1988; Yadaf dan Sticklen, 1995).

Kalus biasanya lebih mudah untuk meregenerasi menjadi akar adventif dibandingkan tunas adventif. Pembentukan akar biasanya berlangsung pada media yang mengandung konsentrasi auksin tinggi dan konsentrasi sitokinin rendah. Sebaliknya pembentukan tunas dapat terjadi pada jaringan kalus yang ditumbuhkan pada media yang mengandung konsentrasi auksin rendah dan sitokinin tinggi (Suliansyah, 2009.)

Pada kultur *in vitro* terjadi keragaman genetik yang dapat ditingkatkan dengan

pemberiaan mutagen. Menurut Mikce (1996) mutagen menyebabkan perubahan. Induksi mutasi pada tanaman dilakukan dengan tujuan perbaikan sifat genetik, terutama peningkatan produksi, ketahanan terhadap penyakit serta toleran terhadap cekaman lingkungan. Mutagen yang diberikan dapat berupa mutagen fisik antara lain iradiasi sinar gamma maupun kimiawi yaitu *Ethyle Methane Sulphonate* (EMS), *Diethyl Sulfat* (DES), *Etilin Amin* (EM), *Ethyl Nitroso Urea* (ENH), dan *Diethyl Methane Sulphonate* (DEMS). Dari beberapa mutagen kimia yang telah dipergunakan tersebut EMS sering menghasilkan mutan yang bermanfaat. Penggunaan EMS ini sebagai bahan mutagen akan menyebabkan perubahan struktur alkil pada DNA, perubahan ini akan diteruskan pada replikasi selanjutnya. Perubahan struktur DNA akan diikuti dengan perubahan transkripsi pada RNA dan diteruskan pada translasi yang akan menghasilkan rantai polipeptida yang berbeda dibandingkan dengan sebelum diberi mutagen (Micke, 1996).

Etil Methane Sulfonat (EMS) adalah mutagen kimia yang banyak digunakan untuk memperluas keragaman genetik pada tanaman untuk tujuan pemuliaannya. Peningkatan keragaman genetik tanaman dengan induksi EMS telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies tanaman, seperti tembakau (Gichner, Stavevra, dan van Breusegem, 2001), arabidopsis (Chen, Choi, Voytas, dan Rodermel, 2000), kubis bunga (Mangal dan Sharma, 2002), pisang (Imelda, 2000), kerk lily (*Lilium longiflorum* T.) (Priyono dan Susilo, 2002).

Induksi tanaman dengan EMS yang menyebabkan mutasi pada DNA tanaman akan memberikan pengaruh perubahan morfologi pada tanaman tersebut. Induksi dengan mengkombinasikan konsentrasi EMS dan lamanya waktu perendaman merupakan salah satu cara yang digunakan untuk mendapatkan variabilitas genetik tanaman (Micke dan Donini, 1993).

Beberapa konsentrasi EMS dan waktu perendaman yang berbeda telah memperlihatkan pengaruh dan menghasilkan mutan positif terhadap berbagai tanaman yang telah diteliti oleh peneliti sebelumnya. Perendaman kalus kentang pada 0,02% EMS selama 30 sampai 60 menit menghasilkan persentase tumbuh akar paling tinggi, sedangkan untuk persentase tumbuh tunas, bobot kalus dan diameter kalus, tidak memperlihatkan perbedaan. Beberapa

konsentrasi EMS dengan waktu perendaman berbeda menghasilkan warna kalus yang beragam (Fitri, 2011).

Berdasarkan latar belakang di atas maka Penulis akan melakukan penelitian yang berjudul **“Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Regenerasi Kalus Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Induksi Mutasi EMS (*Ethyl Methane Sulphonate*)”**. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi tentang pemberian NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang hasil induksi EMS. Mempelajari dan memahami apakah pemberian NAA dan BAP dapat menyokong regenerasi kalus kentang hasil induksi EMS.

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini merupakan percobaan laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penelitian ini berlangsung selama 6 bulan dari bulan Juli sampai dengan Desember 2011

Percobaan ini dilakukan menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) berbentuk faktorial. Perlakuannya yaitu dengan pemberian zat pengatur tumbuh NAA (perlakuan A) yang terdiri dari 4 taraf yaitu: a_1 = pemberian 1,0 mg/I NAA, a_2 = pemberian 2,0 mg/I NAA, a_3 = pemberian 3,0 mg/I NAA, a_4 = pemberian 4,0 mg/I NAA. dan pemberian BAP (perlakuan B) yang terdiri dari 5 taraf yaitu : b_1 = pemberian 1,0 mg/I BAP, b_2 = pemberian 2,0 mg/I BAP, b_3 = pemberian 3,0 mg/I BAP, b_4 = pemberian 4,0 mg/I BAP, b_5 = pemberian 5,0 mg/I BAP. Data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan sidik ragam pada taraf nyata 5 % dan jika F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf nyata 5% dan data kualitatif disajikan dalam bentuk tabel. Data pengamatan waktu muncul rootlet dan jumlah rootlet ditampilkan secara deskriptif.

Pada tahap awal dilakukan sterilisasi alat dan media. Botol yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dengan *detergen*, kemudian direndam dengan larutan Natrium Hypoclorit (*Bayclin*) minimal 24 jam, lalu dibilas dengan air dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf bertekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 60 menit. Lalu dilakukan pembuatan

media induksi kalus. Media yang digunakan adalah media MS. Lalu induksi pembentukan kalus, Planlet kentang hasil perbanyakan Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Balai Benih Induk Hortikultura Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Sumatera Barat Jaringan yang berumur 30 hari dikeluarkan dari botol dan bagian batangnya dipotong-potong didalam petri dengan ukuran \pm 2 cm. Eksplan ditanam pada media induksi sebanyak 5 eksplan pada masing-masing botolnya. Botol ditutup dengan selotip bening selanjutnya botol-botol dipindahkan ke dalam ruang inkubasi dan disusun pada rak kultur. Kemudian dilakukan pembuatan media regenerasi, media regenerasi merupakan media perlakuan dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP. Total media yang dibuat sebanyak 2 L dimana masing-masing kombinasi perlakuan mempunyai volume 100 ml. Dilanjutkan dengan penanaman tahap regenerasi, Penanaman kalus dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* yang sudah disterilkan dengan cara disemprot alkohol 70% dan diikuti dengan menyalakan lampu ultra violet paling kurang 30 menit. Botol-botol kultur yang telah berisi media, alat tanam, botol eksplan, botol larutan, botol alkohol, akuades steril dan lampu spiritus yang akan digunakan disemprot dengan alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet* . terakhir dilakukan pemeliharaan.

Variabel pengamatannya adalah waktu muncul rootlet (hst), jumlah rootlet, diameter kalus (cm), bobot kalus (g), tekstur kalus dan warna kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada percobaan ini kalus kentang yang diberi perlakuan NAA dan BAP pertumbuhannya cukup baik. Sampai pada pengamatan terakhir penelitian ini belum ada kalus kentang yang beregenerasi menjadi planlet. Pemberian NAA dan BAP pada kalus kentang hanya mampu beregenerasi menjadi rootlet atau akar.

Pengamatan terhadap waktu muncul rootlet dan jumlah akar adalah untuk mengetahui keefektifan pengaruh kombinasi NAA dan BAP yang dilakukan dalam penelitian ini. Pengaruh kombinasi NAA dan BAP

terhadap waktu muncul rootlet dan jumlah akar disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa waktu muncul akar tercepat pada media dengan kombinasi NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l yakni pada umur 18 hari setelah tanam. Waktu muncul

akar terlama pada media dengan kombinasi NAA 4 mg/l dan BAP 1 mg/l yakni pada umur 37 hari setelah tanam. Sampai pada pengamatan terakhir yakni 7 minggu setelah tanam tidak ada muncul akar pada beberapa perlakuan NAA dan BAP.

Tabel 1. Waktu muncul Rootlet dan jumlah rootlet setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus tanaman kentang.

No.	Perlakuan	Saat terbentuk rootlet (hst)	Jumlah rootlet
1.	1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	33	2
2.	1 mg/l NAA + 2 mg/l BAP	00	00
3.	1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	00	00
4.	1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP	00	00
5.	1 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	00	00
6.	2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	28	2
7.	2 mg/l NAA + 2 mg/l BAP	00	00
8.	2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	33	2
9.	2 mg/l NAA + 4 mg/l BAP	00	00
10.	2 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	00	00
11.	3 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	18	17
12.	3 mg/l NAA + 2 mg/l BAP	22	8
13.	3 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	30	2
14.	3 mg/l NAA + 4 mg/l BAP	00	00
15.	3 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	00	00
16.	4 mg/l NAA + 1 mg/l BAP	37	1
17.	4 mg/l NAA + 2 mg/l BAP	00	00
18.	4 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	00	00
19.	4 mg/l NAA + 4 mg/l BAP	00	00
20.	4 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	00	00

Data pada tabel tidak dianalisis namun dijelaskan secara deskriptif

Jumlah akar berbanding lurus dengan waktu muncul rootlet yakni terdapat pada media dengan perlakuan NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l. Begitupun dengan jumlah akar yang sedikit juga terdapat pada media dengan konsentrasi NAA 4 mg/l dan sitokinin 1 mg/l yakni dengan jumlah akar satu. Pada penelitian ini tidak ada shootlet yang terbentuk sampai pada pengamatan terakhir. Hal ini mungkin disebabkan belum adanya konsentrasi yang seimbang antara NAA dan BAP terhadap terbentuknya shootlet. Bentuk kalus yang dihasilkan dalam percobaan ini adalah kompak yang menyebabkan kalus susah untuk beregenerasi menjadi shootlet.

Menurut Suliansyah (2009) kalus biasanya lebih mudah untuk meregenerasi menjadi akar adventif dibandingkan tunas adventif. Pembentukan akar biasanya berlangsung pada media yang mengandung konsentrasi auksin tinggi dan konsentrasi sitokinin rendah.

Sebaliknya pembentukan tunas dapat terjadi pada jaringan kalus yang ditumbuhkan pada media yang mengandung konsentrasi auksin rendah dan sitokinin tinggi.

Pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP memperlihatkan bahwa tidak adanya interaksi antar kedua faktor terhadap diameter kalus kentang. Pemberian NAA memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap diameter kalus kentang. Sebaliknya pemberian BAP memberikan pengaruh berbeda tidak nyata pada diameter kalus kentang. Data diambil setelah dianalisis secara sidik ragam. Untuk lebih jelasnya pada Tabel 2 disajikan rata-rata diameter kalus setelah diberi perlakuan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Tabel 2 memperlihatkan bahwa diameter kalus tertinggi terdapat pada kombinasi NAA dan BAP dengan konsentrasi 2 mg/l dan 2 mg/l yakni 0,83 cm. Diameter kalus yang terendah

terdapat pada media dengan kombinasi NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l. Rata-rata tertinggi diameter kalus kentang terdapat pada pemberian konsentrasi NAA 2 mg/l.

Media yang terbaik dalam meningkatkan diameter kalus kentang pada penelitian ini adalah media yang mengandung konsentrasi NAA 2 mg/l dan BAP 2 mg/l. Berbanding lurusnya antara konsentrasi NAA dan BAP

mampu meningkatkan luas diameter kalus kentang. Diameter kalus yang terendah terdapat pada media dengan konsentrasi NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l. Faktor yang menyebabkan rendahnya diameter kalus kentang pada penelitian ini adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media sangat tinggi yakni 4 mg/l.

Tabel 2. Diameter kalus kentang setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP pada kalus kentang (umur 7 MST).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)					Rata-rata
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	
1,00	0,74	0,63	0,78	0,68	0,62	0,69 a
2,00	0,63	0,83	0,61	0,81	0,80	0,74 a
3,00	0,75	0,82	0,63	0,62	0,52	0,67 ab
4,00	0,65	0,67	0,55	0,50	0,51	0,58 b

KK = 20,30%

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Menurut Lakitan (1996), pemberian zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi yang sesuai dapat meningkatkan morfogenesis tanaman, tetapi apabila zat pengatur tumbuh diberikan dalam konsentrasi yang berlebihan maka akan menjadi penghambat bagi pertumbuhan morfogenesis tanaman. Gunawan (1998) menyatakan interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel.

Media dengan penambahan auksin mampu meningkatkan diameter kalus. Pernyataan ini diperkuat oleh pendapat Pierik (1997) dimana auksin mampu meningkatkan pemanjangan sel dan pembelahan sel. Dan pada konsentrasi auksin yang tinggi mampu merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis (Smith, 1992).

Ukuran kalus yang dipindahkan ke media regenerasi menentukan keberhasilan regenerasi. Ukuran kalus yang lebih kecil akan sulit beregenerasi atau mati. Pada penelitian ini, ukuran diameter kalus sebelum tanam ± 0,4 cm. Dari minggu ke minggu diameter kalus selalu berkembang sehingga memperoleh diameter kalus tertinggi yakni 0,83 cm.

Hasil analisis statistik bobot kalus disajikan pada Lampiran 5. Interaksi NAA dan BAP memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap bobot kalus kentang, namun pemberian NAA memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap bobot kalus kentang. Pemberian BAP memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap bobot kalus setelah diuji secara sidik ragam dengan uji F pada taraf 5 %. Untuk lebih jelasnya, pada Tabel 3 disajikan rata-rata bobot kalus kentang setelah diberi perlakuan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Tabel 3 terlihat bahwa bobot kalus yang terbesar pada kombinasi NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l yaitu 0,90 g. Hasil tersebut memberikan gambaran bahwa media dengan pemberian konsentrasi NAA 3 mg/l dan BAP 1 mg/l mampu memberikan hasil yang terbaik dalam memperbesar bobot kalus kentang. Bobot kalus kentang yang paling terendah terdapat pada media dengan konsentrasi NAA 4 mg/l dan BAP 4 mg/l.

Menurut Wattimena (1987) pertumbuhan kalus akan terjadi apabila konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin. Hal ini terjadi karena secara fisiologis auksin berperan dalam mendorong pembesaran dan pemanjangan sel sehingga semakin besar dan panjang selnya dalam hal ini adalah kalus, maka akan meningkatkan bobot kalus.

Penambahan sitokinin (BAP) yang tinggi pembentukan kalus sehingga cenderung kedalam media dapat menghambat menurunkan bobot kalus (Fermila, 2005).

Tabel 3. Bobot kalus setelah pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP terhadap kalus kentang (umur 7 MST)

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)					Rata-rata
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	
1,00	0,47	0,38	0,43	0,39	0,44	0,41 bc
2,00	0,38	0,43	0,29	0,6	0,67	0,47 b
3,00	0,90	0,70	0,6	0,47	0,41	0,62 a
4,00	0,32	0,35	0,27	0,25	0,30	0,30 c

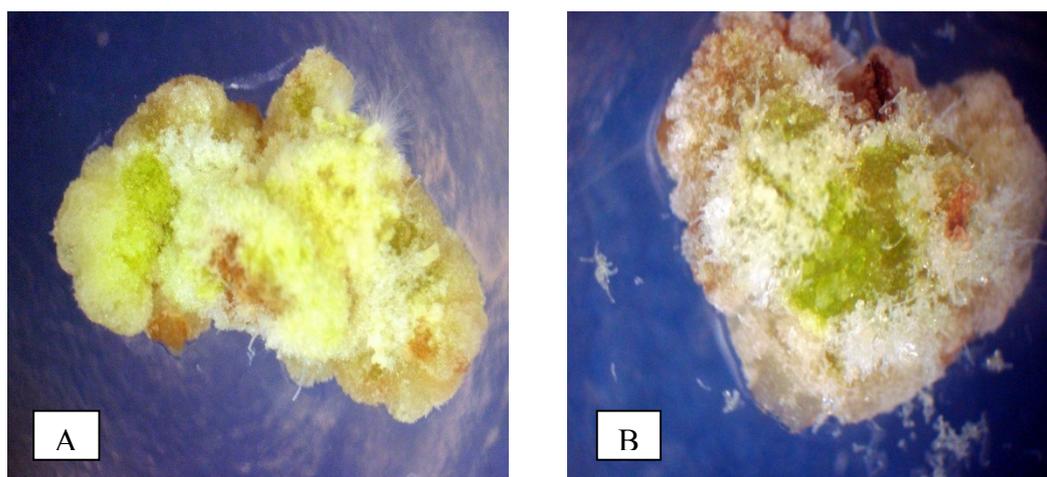
KK = 37,7%

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

Namun pada media dengan perlakuan NAA 4 mg/l, bobot kalus menurun jika dibandingkan dengan konsentrasi NAA 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l. Hal ini dikarenakan konsentrasi yang terlalu tinggi tidak baik bagi pertumbuhan kalus dimana dalam hal ini bobot kalus. Pernyataan ini selaras dengan pendapat Moore (1979) dan Wattimena (1988) menyatakan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi terlalu tinggi bukanlah bersifat mendorong pertumbuhan akan tetapi menghambat proses pembelahan sel. Hal ini dapat dilihat pada pemberian konsentrasi auksin (NAA) yang tinggi yakni 4 mg/l mengakibatkan bobot kalus sangat rendah yakni 0,25 g.

Pengamatan tekstur kalus dilakukan pada minggu terakhir setelah tanam. Pengamatan ini menggunakan mikroskop untuk membantu memperjelas hasil gambar pengamatan. Hasil pengamatan dijelaskan secara deskriptif. Hasil pengamatan didokumentasi menggunakan kamera digital, sehingga didapatkan kesimpulan bahwa semua kalus yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi NAA dan BAP bertekstur kompak. Pada penelitian ini tidak ditemukan tekstur kalus yang remah. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1. Tekstur kalus kentang secara umum hasil mikroskop (400 kali pembesaran) pada umur 7 minggu setelah tanam.



Keterangan : A). Kalus kentang pada media NAA 2 mg/l dan BAP 4 mg/l, B). Kalus kentang dengan media NAA 5 mg/l dan BAP 1 mg/l.

Bentuk kalus kompak adalah kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang kuat dan keras. Biasanya struktur kalus menggambarkan daya regenerasinya membentuk tunas dan akar. Kalus yang berbentuk remah dan terdapat globular (nodul-nodul) berwarna bening biasanya mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas daripada kalus yang bersifat kompak dan berwarna coklat-kehitaman. Dalam hal ini media yang digunakan untuk memacu

regenerasi kalus akan sangat menentukan. Keseimbangan nutrisi dalam media tumbuh sangat mempengaruhi pertumbuhan kalus maupun diferensiasinya membentuk tunas (Purnamaningsih, 2006). Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen di dalam tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena *et al.*, 1992).

Tabel 4. Variasi warna kalus kentang pada pemberian berbagai konsentrasi NAA dan BAP (umur 7 minggu setelah tanam)

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi BAP (mg/l)				
	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
1,00	Coklat kekuningan	Coklat	Hijau keputihan	Coklat	Hijau keputihan
2,00	Putih kehijauan	Putih kecoklatan	Coklat kekuningan	Hijau keputihan	Hijau kecoklatan
3,00	Hijau keputihan	Hijau kekuningan	Coklat	Putih kecoklatan	Coklat
4,00	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat

Pengamatan warna kalus dilakukan secara visual dengan menggunakan *color chart*. Hasil yang diperoleh yakni terdapat variasi warna kalus setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP. Variasi warna dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4 dapat kita lihat terdapat 5 variasi warna kalus (Gambar 2). Kalus berwarna hijau keputihan terdapat pada media dengan kombinasi NAA dan BAP 1 mg/l dan 5 mg/l, 2 mg/l dan 4 mg/l, 2 mg/l dan 4 mg/l, dan juga pada konsentrasi 3 mg/l NAA dan 2 mg/l BAP. Kalus yang berwarna coklat terdapat pada auksin berkonsentrasi 4 mg/l yang dikombinasikan dengan berbagai konsentrasi BAP.

Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono dan Wijayani (2002) bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Sitokinin yang ditambahkan dalam media mampu menghambat proses perombakan butir-butir klorofil karena

sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis protein (Wattimena, 1988). Tanda bahwa kalus yang diregenerasikan dapat membentuk tunas antara lain terjadinya perubahan warna dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan, perubahan warna tersebut merupakan tanda adanya morfogenesis (Lestari dan Mariska, 2003). Warna kalus kehijauan diduga karena konsentrasi BAP yang terdapat pada media setara atau lebih tinggi daripada konsentrasi NAA. BAP sebagai sitokinin memacu pembentukan klorofil, sebaliknya auksin bisa menjadi penghambat. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh George dan Sherrington (1984) akan terjadi penurunan pembentukan klorofil apabila terdapat 2,4-D pada kultur kacang kapri, tomat, dan kentang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan pada pengaruh pemberian NAA dan BAP terhadap regenerasi kentang hasil induksi mutasi EMS dapat dirumuskan kesimpulan: 1) Tidak terdapat interaksi antara NAA dan BAP terhadap regenerasi kalus kentang menjadi planlet, waktu muncul rootlet, jumlah rootlet, diameter kalus dan bobot kalus. 2) Pemberian NAA memberikan pengaruh berbeda nyata pada diameter kalus dan bobot kalus kentang. 3) Warna kalus yang dihasilkan adalah hijau keputihan, hijau kekuningan, putih kecoklatan, coklat dan coklat kekuningan. Sedangkan tekstur kalus yang terbentuk adalah kompak.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, M., Y. Choi, D.F. Voytas, dan S. Rodermel. 2000. Mutations in The Arabidopsis VAR2 Locus Cause Leaf Variegation Due to The Loss of Chloroplast FtsH Protease. *Plant J.* 22:303-313.
- De Block, M. 1998. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 767-774.
- Fermila, E.Y. 2005. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP Dalam Menginduksi Kalus Biji Muda Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Fitri, R.M. 2011. Pengaruh Beberapa Konsentrasi Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Dengan Waktu Perendaman Berbeda Terhadap Pertumbuhan Kalus Tanaman Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Gichner, T., D.A. Stavevra, and F. Van breusegem. 2001. O-Phenylene Diamine-Induce DNA Damage and Mutagenicity in Tobacco Seedlings Is Light-Dependent. *Mutation Res.* 495:117-125.
- George, E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation by Tissue Culture. Exegetics Limited. England.
- Gunawan, L. W. 1987. Teknik kultur jaringan tumbuhan. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor. 252-304 hal.
- Imelda, M. 2000. Cemical Mutation by *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) For Bunchy Top Virus Resisten in Banana. Bogor. Indonesia.
- Mangal, M. dan D.R. Sharma. 2002. In vitro Mutagenesis and Cell Selection For The Induction of Black Rot Resistance in Cauliflower. *J. Hort Sci Biotech.* 77: 268-272.
- Micke, A,B. Donini, dan M, Maluszynski. 1993. Les Mutation Induites en Amelioration des Plantes. *Mutation Breeding Newsl.* 42:26.
- Micke, A. 1996. 70 Years Induced Mutation to Be Reconsidered. *Mutation Breeding.* Newsletter. 42: 22-24.
- Moore, T.C. 1979. Biochemistry and physiology of plant hormones. springerVerlag. New York. 175 pp.
- Pierik, R.L.M. 1971. Plant Tissue Culture as Motivation for The Syposium dalam K. v. Bragt et al [eds.]. Effects of Sterilisation on Components in nutrient Media. Wageningen: Vennman and Zonen.
- Priyono dan A. W. Susilo, 2002. Respons Regenerasi In-Vitro Eksplant Sisik Mikro Kerk Lily (*Lilium longiflorum* T.) Terhadap *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS). *Jurnal Ilmu Dasar.* 3 (2): 74-79
- Purmaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa gen yang Mengendalikannya. Buletin AgroBio, Vol.5No.2. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. Hal. 51-58.
- Rukmana, 1996. Kentang budidaya dan pasca panen. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 108 hal.
- Satria, B Zainal. 2004. Perbanyak vegetative durian Aripan (*Durio zibethinus* Murr.) melalui regenerasi kalus in-vitro. *Jurnal Stigma.* Faperta Unand. XII (1). Hal: 19-24
- Suliansyah, I. 2009. Pengembangan bahan ajar mata kuliah kultur jaringan tanaman. Universitas Andalas. Padang
- Suryowinoto, M. 1990. Tenaga atom pemanfaatannya dalam biologi dan pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 265 hal.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU. Bioteknologi. IPB. Bogor. 247 hal.

